

Rec'd PCT/PTO 06 JUN 2005

PCT/KR 03/02654

RO/KR 04.12.2003

REC'D 23 DEC 2003

WIPO

PCT

대한민국 특허청
KOREAN INTELLECTUAL
PROPERTY OFFICE

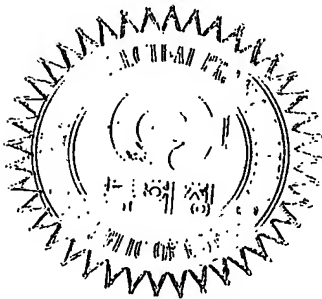
별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 : 10-2002-0085382
Application Number

출원년월일 : 2002년 12월 27일
Date of Application DEC 27, 2002

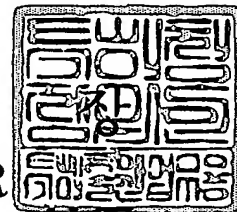
출원인 : 주식회사한국신약
Applicant(s) HANKOOK PHARM. CO., INC.



2003 년 12 월 04 일

특허청

COMMISSIONER



PRIORITY
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

BEST AVAILABLE COPY

【서지사항】

【서류명】	출원인 변경 신고서
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2003.11.25
【구명의인(양도인)】	
【명칭】	주식회사 한국신약
【출원인코드】	2-1999-900022-1
【사건과의 관계】	출원인
【신명의인(양수인)】	
【명칭】	주식회사 한생화장품
【출원인코드】	1-1998-004424-9
【대리인】	
【성명】	이원희
【대리인코드】	9-1998-000385-9
【포괄위임등록번호】	1999-028542-6
【포괄위임등록번호】	1999-040871-4
【사건의 표시】	
【출원번호】	10-2002-0085382
【출원일자】	2002.12.27
【심사청구일자】	2002.12.27
【발명의 명칭】	박태기나무 추출물을 함유하는 피부 노화 억제 화 장품
【변경원인】	일부양도
【취지】	특허법 제38조제4항·실용신안법 제20조·의장법 제 24조 및 상표법 제12조 제1항의 규정에 의하여 위와 같이 신고합니다. 대리인 이원희 (인)
【수수료】	13,000 원
【첨부서류】	1. 양도증_1통 2.인감증명서_1통

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2002.12.27
【발명의 명칭】	박태기나무 추출물을 함유하는 피부 노화 억제 화장품
【발명의 영문명칭】	Skin-aging protecting cosmetics containing the extract of Cercis chinensis
【출원인】	
【명칭】	주식회사 한국신약
【출원인코드】	2-1999-900022-1
【대리인】	
【성명】	이원희
【대리인코드】	9-1998-000385-9
【포괄위임등록번호】	1999-028542-6
【발명자】	
【성명의 국문표기】	나민균
【성명의 영문표기】	NA,Min Kyun
【주민등록번호】	741010-1454632
【우편번호】	302-812
【주소】	대전광역시 서구 관저동 999 원앙마을아파트 412동 602호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	유재국
【성명의 영문표기】	Y00,Jae-Kuk
【주민등록번호】	610520-1405411
【우편번호】	302-771
【주소】	대전광역시 서구 둔산1동 목련아파트 105동 1301호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이찬복
【성명의 영문표기】	LEE,Chan Bog
【주민등록번호】	660510-1452913

【우편번호】	302-210
【주소】	대전광역시 서구 복수동 계룡아파트 3동 903호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김진표
【성명의 영문표기】	KIM, Jin Pyo
【주민등록번호】	701009-1408549
【우편번호】	302-723
【주소】	대전광역시 서구 관저동 구봉마을아파트 801호 1306호
【국적】	KR
【심사청구】	청구
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인 이원희 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	20 면 29,000 원
【가산출원료】	21 면 21,000 원
【우선권주장료】	0 건 0 원
【심사청구료】	6 항 301,000 원
【합계】	351,000 원
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 항산화 활성을 나타내는 박태기나무(*Cercis chinensis*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 노화 억제용 화장품에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 자원확보가 용이하고 기존에 항산화 활성에 관한 보고가 없었던 박태기나무의 알콜 조추출물을 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올 순으로 용매 분획한 후, 항산화 활성을 보이는 에틸아세테이트 분획과 부탄올 분획에 대하여 컬럼 크로마토그래피를 실시하고, 이로부터 수득된 항산화 활성 분획에 대하여 다시 컬럼 크로마토 그래피, 박막 크로마토그래피 또는 고성능 액체 크로마토그래피를 실시함으로써 최종 수득된 항산화 활성 추출물을 포함하는 피부 노화 억제 화장품에 관한 것이다. 본 발명의 피부의 노화를 유발하는 활성산소를 소거하는 기능이 우수한 박태기나무 추출물을 포함하는 화장품은 피부 노화 방지, 피부 탄력 유지 또는 주름 완화를 위한 화장품 시료로서 유용하게 이용될 수 있다.

【대표도】

도 8a

【명세서】

【발명의 명칭】

박태기나무 추출물을 함유하는 피부 노화 억제 화장품{Skin-aging protecting cosmetics containing the extract of *Cercis chinensis*}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 박태기나무로부터 에탄올 조추출물을 얻고, 이를 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올 순으로 추출하는 과정을 나타낸 모식도이고,

도 2는 박태기나무로부터 에탄올 0%부터 순차적으로 10%씩 늘여 100% 농도까지 추출한 에탄올 조추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 그래프이고,

도 3은 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획 및 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 그래프이고,

도 4는 에틸아세테이트 분획으로부터 항산화 활성을 나타내는 화합물을 분리하는 과정을 나타낸 모식도이고,

도 5는 부탄올 분획으로부터 항산화 활성을 나타내는 화합물을 분리하는 과정을 나타낸 모식도이고,

도 6a는 박태기나무 에틸아세테이트 분획으로부터 분리한 화합물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 그래프이고,

도 6b는 박태기나무 부탄올 분획으로부터 분리한 화합물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 그래프이고,

도 7a는 박태기나무 에틸아세테이트 분획으로부터 분리한 화합물의 지질 과산화 억제 활성을 측정한 그래프이고,

도 7b는 박태기나무 부탄올 분획으로부터 분리한 화합물의 지질 과산화 억제 활성을 측정한 그래프이고,

도 8a는 박태기나무 에틸아세테이트 분획으로부터 분리한 화합물의 슈퍼옥사이드 라디칼 소거 활성을 측정한 그래프이고,

도 8b는 박태기나무 부탄올 분획으로부터 분리한 화합물의 슈퍼옥사이드 라디칼 소거 활성을 측정한 그래프이다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

12> 본 발명은 박태기나무 추출물을 포함하는 노화 억제 화장품에 관한 것으로서, 구체적으로는 항산화 활성이 우수한 박태기나무 추출물을 포함하는 피부 노화 억제 화장품에 관한 것이다.

13> 노화에 관하여 현재까지 많은 연구가 진행되고 있지만, 다양한 현상과 복합적인 특징으로 인하여 아직 정확한 기전은 규명되지 못하고 있다. 다만, 수많은 현상학적 연구를 통하여 노화에 관한 여러 가지 가설이 제기되었는데, 그 중 대사과정에서 발생하는 활성산소(reactive oxygen species, ROS)가 노화의 원인이 된다

는 가설이 주요하게 받아들여지고 있다(Harman, D., *Free radical theory of aging*, , 1986, 3-49). 즉, 정상적인 대사과정에서 부수적으로 생성되는 활성산소들이 세포 구성성분인 지질, 단백질, 당, 또는 DNA 등을 비선택적, 비가역적으로 파괴함으로써, 암을 비롯하여 뇌졸중 및 죽상 동맥경화와 같은 심혈관계 질환, 류마티스 같은 만성염증 질환, 호흡기 질환 또는 자가면역질환 등 각종 질병을 유발할 뿐만 아니라(Halliwell, B and Gutteridge, J.M.C, *Biochem. J.*, 1984, 219, 1-14; Freeman, B. A. and Grapo, J. D., , 1982, 47, 412-426; Ames, B. N., *Science*, 1983, 221, 1256-1264; Fridovich, I., , 1986, 247, 1-11; Vishwanath, M. S., , 1995, 10, 19-25), 이러한 산화적 손상들이 오랜 시간 축적되어 노화와 죽음에 이르게 된다는 것이다. 이러한 노화의 활성 산소설은 1956년 하르만(Harman)에 의하여 처음 제안되었고(Harman, D., *Free radical theory of aging*, Alan R Liss, New York, 1986, 3-49), 이후 여러 실험결과들이 상기 가설을 뒷받침 해주고 있다. 실험조건을 달리해 식이를 제한하거나 운동량을 감소시키는 등 기초대사율, 즉, 산소소비량을 감소시킴으로서 수명이 연장되는 것이 관찰되었다(Medvedev, Z. A., *Biol. Rev.*, 1990, 65, 375-398; Loe, J., Northrop, J.H., , 1971, 32, 103-121; Sohal, R. S., *Insect aging*, , 1986, 23-44; Sohal, R. S., *Aging*, 1982, 5, 21-24).

<14> 한편, 생체내에는 산화적 손상으로부터 방어하기 위한 항산화 물질들과 슈퍼옥사이드 디스뮤타제(superoxide dismutase, 이하 'SOD'라 약칭함), 카탈라제(catalase) 또는 퍼옥시다제(oxidase)와 같은 항산화 효소들이 존재하는데, 나이가 들어 늙어감에 따라 활성 산소에 대한 방어 능력이 감소한다는 사실이 보고되었다(Orr, W. C. and Sohal, R. S., *Science*, 1994,

263, 1128-1130; Sohal, R. S. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 1995, 270, 15671-15674). 즉, 늙은 쥐의 간에서 분리된 SOD는 어린 쥐의 SOD 보다 활성이 낮았으며, 특히 초파리에 항산화 효소인 SOD와 카탈라제의 활성을 높여주면 수명이 30% 이상 증가하여 활성산소와 노화가 밀접한 관련이 있음을 알 수 있다. 따라서, 활성 산소를 소거할 수 있는 물질이나 지질 과산화 억제 물질과 같은 항산화제는 활성산소에 의해 유발되는 각종 질환 치료제 및 노화예방을 위한 억제제로서 기대를 모으고 있다.

<15> 또한, 대기오염, 자외선 노출, 스트레스 또는 질병 등의 유해환경으로부터 산화적 스트레스(oxidative stress)에 계속적으로 노출되면, 체내에 라디칼이 증가되고 진피의 결합조직인 콜라겐(Collagen), 엘라스틴(Elastin), 히아루론산(Hyaluronic acid) 등을 파괴하여 피부의 일정 부위 침하 현상(주름)을 일으킬 수 으며, 또한 세포막의 지질 부분을 산화시켜 세포의 파괴 현상을 일으켜 피부염, 여드름 또는 피부암 등의 질병을 유발할 수 있다. 이외에도 라디칼은 멜라닌 형성과정에 관여하여 기미, 주근깨 및 주름생성의 원인이 되기도 한다. 기존에는 아스코르브산, α -토코페롤 또는 SOD 등이 자유 라디칼 소거 기능 물질로 화장품이나 의약품에 배합되어 주름 및 기타 피부 질환을 방지하기 위하여 이용되어 왔으나, 이들은 가격이 고가일 뿐만 아니라 배합시 화학적 안정성이 좋지 못하여 실질적인 효과를 기대하기가 어려운 문제점이 있었다. 이러한 이유로 보다 안전하면서 자유라디칼 소거 효과가 높은 물질을 개발하는 것이 의약품이나 식품 분야 뿐만 아니라 화장품 분야에서도 중요한 과제로 대두되어 많은 연구가 진행되고 있다.

16> 박태기나무(

Cercis chinensis)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 낙엽관목으로서 중국이 원산이다. 높이는 3 내지 5 m이고 작은 가지에는 털이 없으며, 여러 개의 겹질 눈이 있다. 잎은 호생하며, 단엽이고, 모양은 둥근 심장형으로, 지름은 6 내지 11 cm로서 털은 없으며 가장자리가 밋밋하다. 잎의 윗면은 짙은 녹색이며, 윤기가 나고, 뒷면은 연두빛이다. 턱잎은 사각형이고, 일찍 진다. 꽃은 길이가 1 내지 2 cm이고, 잎겨드랑이가 여러송이 붙으며, 화척이 없어 꽃자루만 있다. 꽃 받침은 종모양이고, 위쪽 가장자리에 5개의 무딘 톱니가 있다. 화관은 나비모양이고 자홍색이며, 꽃잎은 5개인데 크기가 일정치 않다. 수술은 10개이고 분리되어 있으며, 기부는 꽃받침 속에 붙어 있고, 꽃실은 가늘고 길다. 암술은 1개이며, 씨방은 광택이 있고, 털은 없으며, 자루가 있다. 암술대 윗부분은 구부러져 있고, 암술머리는 짧고 작으며, 눌러 편평하게 된 모양이다. 개화기는 4월경으로 잎보다 먼저 핀다. 열매는 협과로서 편평한 띠모양이고, 끝은 조금 오그라들어 짧은 주둥이 모양이다. 꼬투리는 길이 7 내지 12 cm로 8, 9월에 익으며, 종자는 둥글고 편평하며 흑색에 가깝다(李永魯, 原色韓國植物圖鑑, 敎學社, 서울, 1996, 362-363). 한방에서는 박태기나무의 수피, 근피, 목질부, 열매, 꽃 등을 각각 자형피(紫荊皮), 자형근피(紫荊根皮), 자형목(紫荊木), 자형과(紫荊果), 자형화(紫荊花)라하며, 풍한습비(風寒濕痺), 통경(通經), 생리통, 후비(喉痺), 임질, 혈액순환 촉진 등에 사용하고 있다(金昌玟 外., 完譯中藥大辭典, 圖書出版 鼎談, 서울, 1997, 3631-3634).

- 17> 본 발명자들은 박태기나무로부터 분리한 추출물이 합성 항산화제와는 달리 인체에 무해하고, 다른 천연 항산화제에 비하여 활성이 우수하여 노화 방지, 피부 탄력 유지 또는 주름 개선을 위한 화장품 시료로서 유용하게 이용될 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

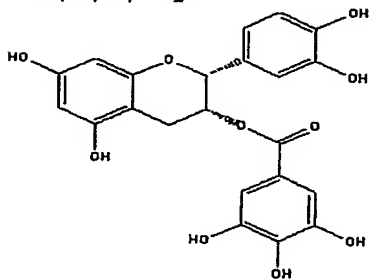
- <18> 본 발명은 항산화 활성이 우수한 박태기나무로부터 분리한 항산화 활성을 가진 추출물을 유효 성분으로 함유하는 노화 억제 화장품을 제공하는 것을 목적으로 한다.

【발명의 구성 및 작용】

- <19> 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 박태기나무로부터 분리한 항산화 활성을 가진 추출물을 유효성분으로 함유하는 노화 억제 화장품을 제공한다.
- <20> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- <21> 본 발명은 항산화 활성을 나타내는 박태기나무의 알콜 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 노화 억제, 피부 탄력 유지 또는 주름 억제용 화장품을 제공한다.
- <22> 본 발명자들은 140 여 종의 생약과 전국에서 채집한 250 여 종의 식물을 대상으로 항산화 활성을 검색하여 몇 가지 후보 식물을 선정하고, 그 중 자원확보가 용이하고 항산화 활성에 관한 보고가 없었던 박태기나무의 추출물로부터 항산화 활성을 확인하였다. 본 발명에 사용된 박태기나무는 2001년 9월 중순 대덕 연구 단지 및 충남대학교에서 채집한 것을 식물도감과 비교하여 확증하였으며, 확증 표본은 (주)한국신약 자광연구소에 보관되어 있다.
- <23> 본 발명의 박태기나무 알콜 추출물에 있어서, 상기 알콜은 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 부탄올로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하며, 알콜은 에탄올인 것이 바람직하다. 또한, 상기 알콜은 60% 알콜인 것이 바람직하다.

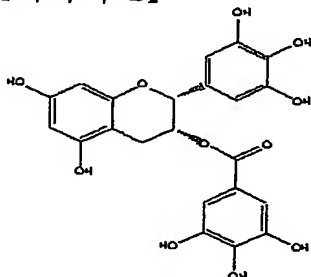
<24> 본 발명에 있어서, 박태기나무 추출물은 상기한 박태기나무의 알콜 조추출물, 바람직하게는 에탄올(EtOH) 조추출물을 헥산(hexane), 에틸 아세테이트(ethyl acetate, EtOAc) 및 부탄올(butanol, BuOH)로 추출하여 각각의 분획을 수득한 뒤, 항산화 활성을 나타내는 에틸아세테이트 분획 및 부탄올 분획으로부터 크로마토그래피 과정을 거쳐 제조되며, 에틸아세테이트 분획으로부터 하기 화학식 1 내지 화학식 9로 표시되는 화합물을 포함하는 추출물이 수득되고 (도 4 참조), 부탄올 분획으로부터 하기 화학식 10 내지 화학식 14로 표시되는 화합물을 포함하는 추출물이 수득된다(도 5 참조).

<25> 【화학식 1】



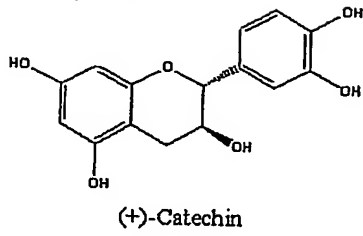
(-)-Epicatechin-3-O-gallate

<26> 【화학식 2】

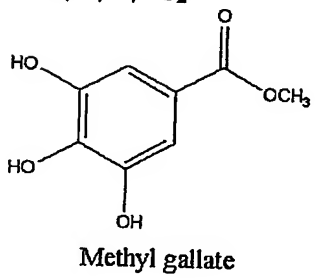


(-)-Epigallocatechin-3-O-gallate

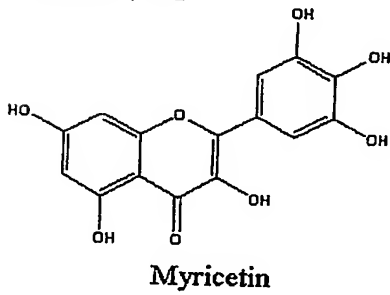
<27> 【화학식 3】



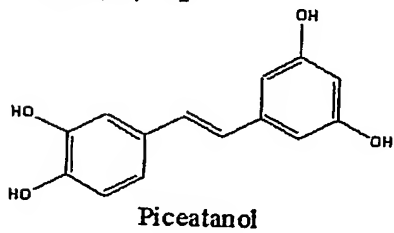
<28> 【화학식 4】



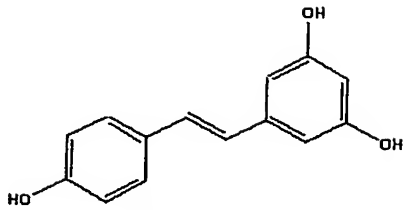
<29> 【화학식 5】



<30> 【화학식 6】

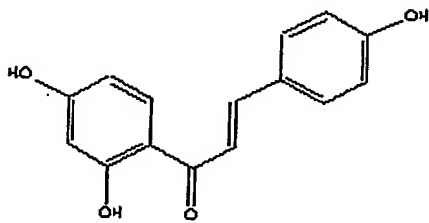


<31> 【화학식 7】



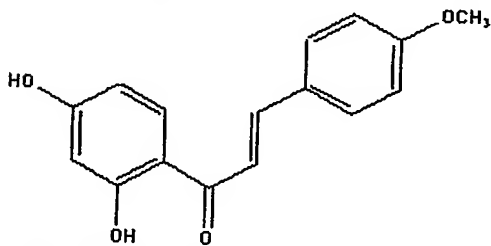
Resveratrol

<32> 【화학식 8】



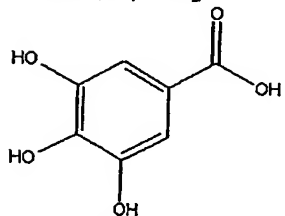
2',4',4'-Trihydroxychalcone (Isoliquiritigenin)

<33> 【화학식 9】



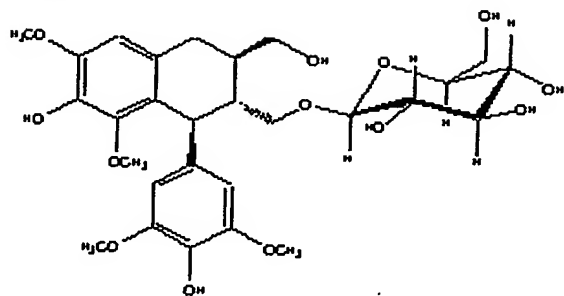
2',4'-Dihydroxy-4-methoxychalcone

<34> 【화학식 10】

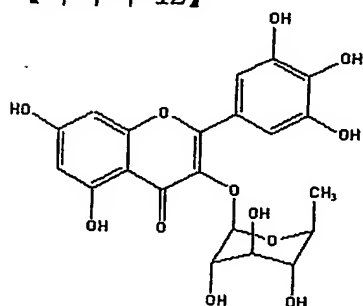


Gallic acid

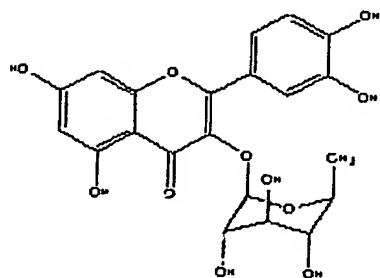
35> 【화학식 11】

(+)-Lyoniresinol-3a-O- β -D-glucopyranoside

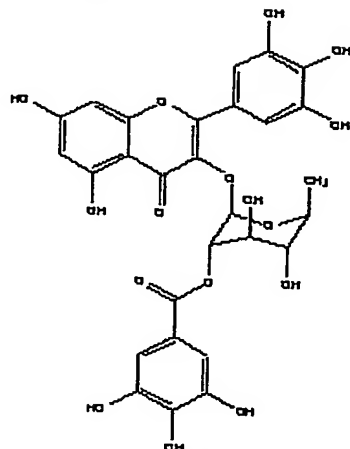
36> 【화학식 12】

Myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside

37> 【화학식 13】

Quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (Quercitrin)

38> 【화학식 14】

Myricetin-3-O-(2'-O-galloyl)- α -L-rhamnopyranoside

39> 상기 화학식 1 내지 화학식 14로 표시되는 본 발명의 화합물은 DPPH 라디칼 소거 활성 (1,1-Diphenyl-2-Pyryl-Hydrazyl radical scavenging activity)(도 6 참조), 지질 과산화 억제 활성(Lipid peroxidation inhibitory activity)(도 7 참조), 하이드록실 라디칼 소거 활성(Hydroxyl radical scavenging activity)(표 2 참조) 및 슈퍼옥사이드 라디칼 소거 활성(Superoxide radical scavenging activity)(도 8 참조) 등의 항산화 활성을 가진다.

0> 호기성 생물체는 산소를 이용하여 에너지 대사를 진행하고 있으나 생체내 산소가 각종 물리적, 화학적 및 생물학적인 스트레스를 받으면 슈퍼옥사이드 음이온 라디칼(superoxide anion radical), 과산화수소(H_2O_2) 및 하이드록시 라디칼(hydroxy radical)등의 유해한 활성산소종(active oxygen species)으로 변하여 인체에 치명적인 생리적 장애를 일으킨다. 상기와 같은 활성 산소종은 세포생체막의 구성성분인 불포화 지방산을 공격하여 과산화 반응을 일으키고 이로 인해 생체내 축적된 과산화지질은 노화와 각종 질병의 원인이 될 수 있다. 본 발명에서는 상기한 활성산소종의 소거 기능 및 지질 과산화 억제 능력을 조사함으로써, 박태기나무

추출물의 항산화 활성을 측정하였다. 그 결과, 상기 박태기나무 추출물은 기존에 항산화 물질로 알려진 비타민 E 및 합성 항산화제인 BHA(*tert*-butyl-4-hydroxyanisole)와 활성이 비슷하거나 높게 나타났으며, 상기 결과로부터 박태기나무 추출물은 항산화 활성이 우수한 추출물임을 확인할 수 있다.

41> 본 발명의 화장품에 있어서, 박태기나무 추출물은 과산화 저해 활성 및 라디칼 제거 활성이 우수하여 높은 항산화 활성을 가지므로, 피부의 과산화 예방을 위해 유용하게 사용될 수 있다. 따라서, 상기 박태기나무 추출물은 피부 노화 억제, 피부 탄력 유지 또는 주름 개선을 위한 화장품 시료로서 이용될 수 있으며, 바람직하게는 유연 화장수, 영양 화장수, 영양크림, 에센스, 팩 또는 목욕용 파우더의 기초 화장품 시료로서 이용될 수 있다.

42> 본 발명의 박태기나무 추출물을 함유하는 화장품에 있어서, 통상적으로 함유되는 화장품 조성물에 본 발명의 박태기나무 추출물이 1 내지 15 중량 %, 바람직하게는 2 내지 10 중량 %의 양으로 첨가된다.

43> 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.

4> 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

5> <실시예 1> 박태기나무로부터의 유효성분의 추출

3> <1-1> 제 1차 항산화 활성분획 분리

<47> 박태기나무로부터 항산화 활성을 나타내는 유효성분을 추출하기 위해 도 1의 모식도에 나타난 순서로 실험을 진행하였다. 구체적으로, 음건한 박태기나무의 잎과 줄기 1 kg을 마쇄기로 갈아서 분말로 만들고 에탄올(EtOH)로 실온에서 2주간씩 2회 추출하였다. 이때 에탄올의 농도를 0%에서부터 순차적으로 10%씩 늘여 최종으로 100% 에탄올을 조제한 후 이를 이용해 추출하였다. 에탄올의 농도에 따른 추출물의 항산화 활성을 확인하기 위해 DPPH(1,1-Diphenyl-2-Pycryl-Hydrazyl, 이하 'DPPH'라 칭함) 방법을 수행하여 항산화 활성을 측정하였다(Taco, T. *et al.*, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1994, 58, 1780-1783; Na, M.K. *et al.*, *Nat. Prod. Sci.*, 2002, 8, 26-29). DPPH는 비교적 안정한 자유 라디칼로서, 라디칼 상태로 존재시 517 nm에서 최대 흡광도를 보이며 소거되면 흡광성을 잃기 때문에 이러한 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정할 수 있는 방법이다. 구체적으로, 박태기나무의 농도별 에탄올 추출물을 취해, DMSO를 이용하여 3.125, 6.25, 12.25, 25 및 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 희석한 후, 96 웰 플레이트에 상기 용액 10 μl 씩을 각각 넣고 2×10^{-4} M/ml 에탄올 농도의 DPPH(Sigma, St. Louis, Mo, USA) 용액 190 μl 를 넣어 실온에서 30분간 방치한 후, 517 nm에서 O.D값을 측정하였다. 대조구로는 시료 대신 DMSO를 가해 시료의 흡광도 감소 정도를 조사하였다. DPPH 라디칼 소거활성을 하기 수학식 1에 따라 계산하였으며, DPPH 라디칼을 50% 소거시키는 시료의 농도를 IC_{50} 으로 정하였다.

48> <수학식 1>

49>

$$\text{DPPH 라디칼 소거활성(\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sapmle}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

<50> A_{control} : 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도

<51> A_{sample} : 시료를 첨가한 반응구의 흡광도

<52> 그 결과, 추출시 사용한 에탄올의 농도가 증가함에 따라 DPPH 라디칼 소거 활성은 증가했으며, 0%, 10%, 20% 및 90% 에탄올 추출물은 라디칼 소거활성이 낮은 반면 정도의 차이는 있지만 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 및 100% 에탄올 추출물의 경우 대체적으로 라디칼 소거활성이 높았다. 특히, 60% 에탄올 추출물의 경우 추출물의 농도 증가에 따른 라디칼 소거활성이 가장 높았으며, IC_{50} 값이 26.6으로 가장 낮아 에탄올 추출물 중에서 가장 높은 항산화 활성을 보이는 추출물임을 알 수 있었다(표 1 및 도 2).

53> 【표 1】

에탄올 농도	DPPH 라디칼 소거활성(%)					IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
	3.125 $\mu\text{g}/\text{ml}$	6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	
0%	2.4	2.9	8	16.8	33	75.2
10%	2.9	6.1	12.6	25	45.3	54.3
20%	3.7	8.4	16.3	32.2	56.1	43.3
30%	5.4	12.3	22.4	42.4	69.7	33.8
40%	6.5	13.2	25.9	47.4	77.9	29.8
50%	6.7	14	27.1	50.1	81.9	28.2
60%	7	15.6	28.5	53.6	85.3	26.6
70%	3.5	10.9	21.9	42	72.8	33.0
80%	4.2	11.4	23.1	46.9	78.9	30.2
80%	3	8.9	17.6	35.3	59.5	40.4
100%	4.1	10.7	21.7	47.4	70.7	32.7

4> 상기에서 60% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성이 가장 높음을 확인한 후 이로부터 용매별 추출물을 수득하였다. 구체적으로, 60% 에탄올 추출물을 증류수로 현탁시킨 후, 헥산

(hexane)으로 3회 추출하고 감압 농축하여 헥산 분획(Fraction, 이하 'Fr'이라 약칭함) 11 g을 얻었고, 남은 현탁액을 에틸 아세테이트(ethyl acetate, EtOAc)로 3 회 추출하고 감압 농축하여 에틸아세테이트 분획(이하 'EtOAc Fr'이라 칭함) 25 g을 얻었으며, 남은 현탁액을 다시 수포화시킨 부탄올(butanol, BuOH)로 3 회 추출하고 감압 농축하여 부탄올 분획(이하 'BuOH Fr'이라 칭함) 19 g을 얻었다. 그리고 남은 분획 20 g은 물 분획으로 간주하였다(도 1).

55> 상기에서 용매 추출한 헥산 Fr, EtOAc Fr 및 BuOH Fr으로부터 항산화 활성이 있는 분획을 찾기 위하여, 상기와 동일한 방법으로 각 분획별 추출물을 이용하여 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였다. 이때, DPPH 라디칼 소거 활성이 높다고 알려져 있는 비타민 E를 비교군으로 사용하였다.

56> 그 결과, EtOAc Fr과 BuOH Fr의 경우 IC₅₀ 값이 각각 24.0과 27.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타나 비교군으로 사용했던 비타민 E(IC₅₀ 24.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$)와 비슷한 정도의 강한 활성을 보였으나, 다른 분획물은 활성이 미약했다(도 3).

57> <1-2> 제 2차 항산화 활성분획 분리

58> 상기 실시예 <1-1>의 결과에 따라, 활성이 강한 EtOAc Fr 및 BuOH Fr에 대하여 하기와 같이 컬럼 크로마토그래피(column chromatography)를 실시하고, 그 결과 수득된 각각의 분획에 대하여 다시 항산화 활성 실험을 수행하여 높은 활성을 보이는 분획만을 선택하였다.

59> 먼저, EtOAc Fr(25 g)에 대하여 메탄올:물(1:4 → 1:0)을 이동상으로 YMC 컬럼 크로마토그래피(컬럼 사이즈: 5 × 80 cm)를 실시하여 11개의 소분획(Fr.1~Fr.11)을 얻었다. 상기 11개

의 소분획중 Fr.1(3.6 g)을 다시 YMC 컬럼 크로마토그래피(컬럼 사이즈: 3 × 80 cm)를 수행하여 5개의 소분획(Fr.1-1~Fr.1-5)을 얻었다. 이 중 Fr.1-1(450 mg)에 분취용(preparative(prep.)) TLC를 실시하여 18 mg 및 21 mg의 화합물을 얻었으며 각각을 'CCEA111(화학식 1)' 및 'CCEA112(화학식 2)'라 명명하였다.

60> 또한, Fr.1-2(500 mg)에 대하여 분취용 HPLC[YMC-Pack ODS-A 컬럼(20 × 250 mm), 이동상: 메탄올:물(3:7), 유속: 6 ml/분, 펌프: LC-8A(Shimadzu), detector: SPD-10A(Shimadzu)]를 실시하여 체류 시간(retention time, 이하 ' t_R '이라 칭함)이 16분인 화합물 77 mg 및 t_R 이 24 분인 화합물 19 mg을 얻어 각각을 'CCEA1211(화학식 3)' 및 'CCEA1212(화학식 4)'라 명명하였다.

61> 또한, Fr.4(4.0 g)는 이동상 클로로포름:메탄올(85:15)로 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(4 × 25 cm, 230-400 메쉬)를 실시하여 다시 6개의 소분획(Fr.4-1~Fr.4-6)으로 나누었으며, 이 중 Fr.4-1(320 mg)에 대하여 분취용 HPLC(이동상: 메탄올:물(35:65), 유속: 6 ml/분)를 실시하여 t_R 이 25분인 화합물 30 mg을 얻어 이를 'CCEA413(화학식 5)'이라 명명하고, Fr.4-4(1 g) 또한 분취용 HPLC(이동상: 메탄올:물(1:1), 유속: 6 ml/분)를 실시하여 t_R 이 15분인 화합물 57 mg을 얻어 'CCEA442(화학식 6)'라 명명하였다.

62> 또한, Fr.6(2.2 g)은 이동상 클로로포름:메탄올(10:1)로 실리카겔 크로마토그래피(3 × 80 cm, 230-400 메쉬)를 실시하여 3개의 소분획(Fr.6-1~Fr.6-3)으로 나누었고, 이 중 Fr.6-2(200 mg)에 대하여 분취용 HPLC(이동상: 메탄올:물(1:1), 유속: 6 ml/분)를 실시하여 t_R 이 20분인 화합물 25 mg을 얻어 이를 'CCEA622(화학식 7)'라 명명하였다.

63> 다음으로, Fr.8(2.1 g)에 대하여 이동상 클로로포름:메탄올(10:1)로 실리카겔 크로마토그래피를 실시하여 화합물 20 mg을 얻어 이를 'CCEA82(

화학식 8)'라 명명하였으며, Fr.9(2.8 g)에 대하여 이동상 클로로포름:메탄올(10:1)로 실리카 겔 크로마토그래피를 실시하여 2개의 소분획(Fr.9.1~Fr.9-2)로 나누었고, 이 중 Fr.9-1(220 mg)에 대하여 분취용 HPLC(이동상: 메탄올:물(4:1), 유속: 6 ml/분)를 실시하여 t_R 이 25분인 화합물 32 mg을 얻고 이를 'CCEA913(화학식 9)'라 명명하였다(도 4).

64> 또한, BuOH Fr(19 g)에 대해서도 메탄올:물(0:1→1:0)을 이동상으로 하여 YMC 겔 컬럼 크로마토그래피(컬럼 사이즈: 5 ×80 cm)를 실시하여 8개의 소분획(Fr.1~Fr.8)을 얻었다. Fr.2(3 g)를 이동상 클로로포름:메탄올:물 (70:30:5)로 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(3 ×80 cm, 230-400 mesh)를 실시하여 다시 5개의 소분획(Fr.2-1~Fr.2-5)으로 나누었으며, 이 중 Fr.2-3(410 mg)에 대하여 분취용 HPLC(이동상: 아세토니트릴:물(18:82), 유속: 6 ml/분)를 실시하여 Fr.2-3-1 및 2-3-2를 얻고, 이 중 Fr.2-3-1에 대하여 다시 분취용 HPLC(이동상: 아세토니트릴:물(10:90), 유속: 6 ml/분)를 실시하여 t_R 이 15분인 화합물 32 mg을 얻고 이를 'CCBt231(화학식 10)'라 명명하였다. 다음으로, Fr.5(3 g)를 이동상 클로로포름:메탄올:물 (70:30:5)로 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(3 ×80 cm, 230-400 메쉬)를 실시하여 다시 3개의 소분획(Fr.5-1~Fr.5-3)으로 나누었으며, 이 중 Fr.5-2(300 mg)에 대하여 분취용 HPLC(이동상: 메탄올:물(35:65), 유속: 6 ml/분)를 실시하여 t_R 이 34 분인 화합물 13 mg을 얻어 'CCBt522(화학식 11)'이라 명명하였다.

35> 다음으로, Fr.6(3.2 g)을 다시 YMC 컬럼 크로마토그래피(컬럼 사이즈: 3×80 cm)를 실시하여 4개의 소분획(Fr.6-1~Fr.6-4)을 얻었고, 이 중 Fr.6-2(370 mg)에 대하여 분취용 HPLC(이동상: 아세토니트릴:물(18:82), 유속: 6 ml/분)를 실시하여 t_R 이 26분인 화합물 9 mg 및 t_R 이 28분인 화합물 16 mg을 얻어 이를 각각 'CCBt622(화학식 12) 및 'CCBt623(화학식 13)'이라 명명하였다.

- 66> 또한, Fr.6-4(200 mg)에 대하여 분취용 HPLC(이동상: 메탄올:물(4:6), 유속: 6 ml/분)를 실시하여 t_R 이 18 분인 화합물 5 mg을 얻고 이를 'CCBt641(화학식 14)'라 명명하였다(도 5).
- 67> <실시예 2> DPPH 라디칼 소거 활성(DPPH radical scavenging activity)의 측정
- 68> 본 발명자들은 상기 실시예 1에서 분리한 화학식 1 내지 화학식 14로 표시되는 화합물을 포함하는 추출물들의 항산화 활성을 측정하기 위하여 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 DPPH 라디칼 소거활성을 측정하였다. 이때, 합성 항산화제인 BHA(tert-butyl-4-hydroxyanisole) 및 강력한 천연 항산화 물질로 알려져 있는 비타민 E를 대조군으로 하였다.
- 69> 그 결과, EtOAC Fr의 화합물의 경우 화합물 CCEA442 및 CCEA1211은 IC_{50} 이 20.9 및 15.6 $\mu g/ml$ 로 대조군인 비타민 E 및 BHA의 IC_{50} 값과 비슷하거나 낮아 비교적 라디칼 소거 활성이 높은 화합물임을 알 수 있었으며, 이외에도 화합물 CCEA413, CCEA111 및 CCEA112의 IC_{50} 이 7.3, 6.8 및 6.7 $\mu g/ml$ 로 대조군보다 훨씬 낮은 수준으로 나타나 라디칼 소거 활성이 높음을 알 수 있었으며, 화합물 CCEA1212는 IC_{50} 값이 5.3 $\mu g/ml$ 로 가장 낮아 라디칼 소거 활성이 가장 높은 화합물임을 알 수 있었다(도 6a). 또한, BuOH Fr의 화합물의 경우 화합물 CCBt522를 제외한 나머지 화합물은 대조군인 비타민 E 및 BHA의 IC_{50} 값보다 낮은 값을 나타내 라디칼 소거 활성이 높음을 알 수 있었으며, 화합물 CCBt231은 IC_{50} 값이 5.1 $\mu g/ml$ 로 라디칼 소거 활성이 가장 높은 화합물임을 알 수 있었다(도 6b).

<70> 상기 결과로부터 EtOAc Fr으로부터 분리한 화합물 CCEA1212 및 BuOH Fr으로부터 분리한 화합물 CCBt231이 라디칼 소거 활성이 가장 높은 화합물로서 가장 높은 항산화 활성을 가짐을 알 수 있었다.

<71> <실시예 3> 지질 과산화 억제 활성(Lipid peroxidation inhibitory activity) 측정

<72> 본 발명자들은 상기 실시예 1에서 분리한 화학식 1 내지 화학식 14로 표시되는 화합물의 항산화 활성을 측정하기 위하여 지질 과산화 억제 활성을 측정하였다. 지질 과산화 억제 활성을 측정하는 것은 Fe^{2+} /아스코르브산 반응계에 의하여 최종 생성된 하이드록실 라디칼(hydroxyl radical)이 지질을 산화시켜 생성되는 말론디알데히드(malondialdehyde, MDA)를 티오바비투릭산(thiobarbituric acid, 이하 'TBA'라 칭함)과 반응시켜 분광학적 방법으로 정량하는 것이다. 구체적으로, 화학식 1 내지 화학식 14로 표시되는 화합물 시료 각각 10 μl 과 10 mg 단백질/ml 농도의 쥐의 뇌 균질화물(Rat brain homogenate) 50 μl 및 50 mM 포스페이트 버퍼(phosphate buffer, pH 7.4) 740 μl 를 섞은 후 0.1 mM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 와 1 mM 아스코르브산(ascorbic acid) 혼합액 200 μl 를 넣어 37°C에서 30분간 반응시켰다. 상기 반응액에 20% 트리클로로아세트산(trichloroacetic acid, 이하 'TCA'라 칭함)(Sigma) 250 μl 를 가하여 반응을 정지시킨 후 1% TBA(Sigma) 250 μl 를 가하고 100°C에서 10분간 반응시켰다. 상기 반응액을 10,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 지질과산화 억제 활성은 하기 수학적 2에 따라 산출하였으며, 지질과산화 반응을 50% 억제시키는 농도를 IC_{50} 으로 하였다. 비교군으로는 비타민 E 및 BHA를 사용하였으며 대조군으로는 시료 및 용액을 아무것도 첨가하지 않은 것을 사용하였다.

<73> <수학식 2>

<74>

$$\text{지질과산화 억제활성(\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}} \times 100$$

<75> A_{control} : 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도

<76> A_{sample} : 시료를 첨가한 반응군의 흡광도

<77> A_{blank} : 시료, TCA 및 TBA 용액을 첨가하지 않은 흡광도

<78> 그 결과, EtOAc Fr 으로부터 분리한 화합물의 경우 화합물 CCEA913 및 CCEA1212를 제외한 나머지 화합물은 대조군인 비타민 E보다 낮아 지질 과산화 저해 활성이 높음을 알 수 있으며, 화합물 CCEA442는 IC_{50} 이 $0.09 \mu\text{g/ml}$ 로 대조군보다 훨씬 낮아 극소량의 농도에서도 지질 과산화 저해 활성이 높은 화합물임을 알 수 있었다(도 7a). 또한, BuOH Fr 으로부터 분리한 화합물의 경우 대체적으로 비교군인 비타민 E보다는 높게 나타났으며, 화합물 CCBt641는 IC_{50} 이 $4.73 \mu\text{g/ml}$ 으로 가장 낮아 낮은 농도에서도 가장 높은 지질 과산화 저해 활성을 가짐을 알 수 있었다(도 7b).

<79> 상기 결과로부터, EtOAc Fr 으로부터 분리한 화합물 CCEA442 및 BuOH Fr 으로부터 분리한 화합물 CCBt641이 지질 과산화 저해 활성이 가장 높아 높은 항산화 활성을 가진 화합물임을 알 수 있다.

80> <실시예 4> 하이드록실 라디칼 소거 활성(Hydroxyl radical scavenging activity) 측정

81> 본 발명자들은 상기 실시예 1에서 분리한 화학식 1 내지 화학식 14로 표시되는 화합물의 항산화 활성을 측정하기 위하여 할리웰의 방법(Halliwell, B. *et al.*, Anal Biochem., 1987, 165, 215-219)에 따라 하이드록실 라디칼 제거 활성을 측정하였다. 구체적으로, 화합물을 DMSO에 녹인 시료 10 μ l, 포스페이트 버퍼(20 mM, pH 7.4), 데옥시리보스(deoxyribose) 5.6 mM, FeCl₃ 0.1 mM, H₂O₂ 1 mM 및 아스코르브산 0.1 mM을 혼합하여 1 ml이 되게 하여 37°C에서 60분간 반응시켰다. 상기 반응액에 20% TCA 250 μ l 및 1% TBA 용액(50 mM NaOH에 녹임) 250 μ l를 첨가하여 95°C에서 5분동안 열반응시켰다. 상기 반응 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 하이드록실 라디칼 소거 활성은 하기 수학식 3에 따라 계산하였다. 비교군으로는 BHA 및 알파-토코페롤을 사용하였다.

82> <수학식 3>

83>

$$\text{하이드록실 라디칼 소거 활성(\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}} \times 100$$

84> A_{control}: 대조구 웰의 흡광도

85> A_{sample}: 시료를 첨가한 반응구 웰의 흡광도

86> A_{blank}: 시료, TCA 및 TBA 용액을 첨가하지 않은 웰의 흡광도

87> 그 결과, 비교군인 BHA의 하이드록실 라디칼 제거 활성이 15.6%인데 반해, EtOAC Fr으로 부터 분리한 화합물 CCEA1212 및 CCEA111은 43.8% 및 39.9%이고, BuOH Fr으로부터 분리한 화합

물 CCBt641은 45.4%로 대체로 활성이 높은 물질이었으며, 가장 저해 활성이 높은 화합물은 CCEA112로 54%였다(표 2).

<88> 【표 2】

화합물	저해율(%)	화합물	저해율(%)
CCEA913	3.2	CCBt641	45.4
CCEA82	6.1	CCBt622	19.5
CCEA62	9.4	CCBt623	16.6
CCEA442	12.7	CCBt522	7.3
CCEA413	8.7	CCBt231	33.6
CCEA1211	12.7	알파-토코페롤	0.8
CCEA1212	43.8	BHA	15.6
CCEA111	39.9		
CCEA112	54.0		

<89> <실시에 5> 슈퍼옥사이드 라디칼 소거 활성(Superoxide radical scavenging activity) 측정

<90> 상기 실시예 1에서 분리한 화학식 1 내지 화학식 14로 표시되는 화합물의 항산화 활성을 확인하기 위하여 다른 유해 활성산소류의 전구물질로 작용하는 슈퍼옥사이드 라디칼(Superoxide radical, O_2^-)의 소거 활성을 측정하였다. 슈퍼옥사이드 라디칼 소거 활성은 슈퍼옥사이드를 디스뮤테이션(dismutation) 시킴으로써 슈퍼옥사이드를 소거하는 효소인 슈퍼옥사이드 디스뮤테아제(SOD)의 활성을 측정하여 검색할 수 있으며, 본 발명에서는 크산틴/크산틴 산화 효소(xanthine/xanthine oxidase)의 효소반응에 의한 슈퍼옥사이드 발생계 및 니트로 블루 테트라졸리움(nitro blue tetrazolium, 이하 'NBT'라 칭함)가 환원되어 포르마잔(formazan)이 생성되는 반응($NBT + 2O_2^- \rightarrow NBTH_2 + 2O_2$)에 대한 시료의 억제 정도를 측정하였다. 구체적으로, 96 웰 플레이트에 4 mM 크산틴(xanthine, Sigma) 50 μ l, 250 mM NBT(Sigma) 50 μ l, 50

mM 포스페이트 버퍼(pH 7.8, 1mM EDTA) 50 μ l 및 시료 10 μ l를 넣은 후 크산틴 산화효소 (Sigma) 40 μ l를 넣어 반응시켰다. 상기 반응 후 시간별로 각 반응액을 수거하여 ELISA 측정기로 550nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 슈퍼옥사이드 라디칼 소거활성은 하기 수학적 식 4에 나타난 바와 같이 대조구에 대한 NBT의 환원 감소 정도로써 산출하였으며, 슈퍼옥사이드 라디칼을 50% 소거시키는 시료의 농도를 IC₅₀으로 하였다. 비교군로는 BHA, 알파-토코페롤을 사용하여 항산화 효과를 비교하였다.

<91> <수학적 식 4>

<92>

$$\text{슈퍼옥사이드 라디칼 소거 활성(\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}} \times 100$$

<93> A_{control}: 시료를 첨가하지 않은 대조구 웰의 흡광도

<94> A_{sample}: 시료를 첨가한 반응구 웰의 흡광도

<95> A_{blank}: 시료 및 NBT 용액을 첨가하지 않은 웰의 흡광도

<96> 그 결과, EtOAc Fr으로부터 분리한 화합물의 경우 화합물 CCEA913, CCEA82 및 CCEA622를 제외한 나머지 화합물은 대조군인 BHA보다 IC₅₀이 훨씬 낮아 슈퍼옥사이드 라디칼 소거활성이 높음을 알 수 있으며, 화합물 CCEA111은 IC₅₀이 11.9 μ g/ml로 가장 낮은 값을 보여 낮은 농도에서도 슈퍼옥사이드 라디칼을 소거할 수 있는 화합물임을 알 수 있었다.

도 8a). 또한, BuOH Fr으로부터 분리한 화합물의 경우 화합물 CCBt522를 제외한 나머지 화합물은 비교군인 BHA보다는 IC_{50} 이 낮아 슈퍼옥사이드 라디칼 소거활성이 높음을 알 수 있었으며, 화합물 CCBt641은 IC_{50} 이 $13.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 낮아 낮은 농도에서도 가장 높은 슈퍼라디칼 소거 활성을 가짐을 알 수 있었다(도 8b).

<97> 상기 결과로부터, EtOAC Fr으로부터 분리한 화합물 CCEA111 및 BuOH Fr으로부터 분리한 화합물 CCBt641이 슈퍼라디칼 소거 활성이 가장 높아 높은 항산화 활성을 가진 화합물임을 알 수 있다.

<98> <제제예 1> 박태기나무 추출물을 함유하는 화장품의 제조

<99> 본 발명자들은 상기 박태기나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 화장품을 하기 표 3 내지 표 5와 같이 제조하였다. 또한, 하기 제제예에 포함된 박태기나무 추출물 이외에도 통상적으로 화장품을 제조하는데 사용할 수 있는 다른 추출물이 추가로 포함될 수 있다. 그 예로, 상백피, 갈조, 당귀, 의이안, 목단피, 마치현, 감잎, 위치하젤 및 센텔라 추출물이 있다.

!00> 【표 3】

영양크림의 제조

원료명	분량(kg)
세토스테아릴알콜	2.80
밀난	2.60
스테아린산	1.40
친유형모노스테아린산글리세린	2.00
피이지-100 스테아레이트	1.00
세스퀴올레인산소르비탈	1.40
호호바오일	4.00
스쿠알란	3.80
폴리소르베이트 60	1.10
마카다이하오일	2.00
초산토코페롤	0.20
메칠폴리실록산	0.40
에칠파라벤	0.10
프로필파라벤	0.10
Euxyl K-400	0.10
1,3-부틸렌글리콜	7.00
메칠파라벤	0.05
글리세린	6.00
d-판테놀	0.20
박태기나무 추출물	7.3
트리에탄올아민	0.20
pt 41891	0.20
p-H ₂ O	56.05
합계	100

101> 【표 4】

로션의 제조

원료명	분량(kg)
세토스테아릴알콜	1.60
스테아린산	1.40
친유형모노스테아린산글리세린	1.80
피이지-100 스테아레이트	2.60
세스퀴올레인산소르비탈	0.60
스쿠알란	4.80
마카다미아오일	2.00
호호바오일	2.00
초산토코페롤	0.40
메칠폴리실록산	0.20
에칠파라벤	0.10
프로필파라벤	0.10
1,3-부틸렌글리콜	4.00
메칠파라벤	0.10
산탄검	0.10
글리세린	4.00
d-판테놀	0.15
알란토인	0.10
박태기나무 추출물	8.4
카르보네(2% aq. Sol)	4.00
트리에탄올아민	0.15
에탄올	3.00
pt 41891	0.10
p-H ₂ O	58.3
합계	100

102> 【표 5】

스킨의 제조

원료명	분량(kg)
프로필렌글리콜	8.00
메칠파라벤	0.10
산탄검	0.10
알란토인	0.10
글리시리진산디칼륨	0.10
에칠렌디아민테트라초산디나트륨	0.05
피이지60 하이드로게네티드카스티오일	0.10
박태기나무 추출물	8.8
이미다졸리디닐우레아	0.10
트리에탄올아민	0.10
에탄올	2.50
pt 4291	0.10
p-H ₂ O	79.85
합계	100

【발명의 효과】

- 103> 상기에서 살펴본 바와 같이, 합성 항산화제와는 달리 인체에 무해하고, 다른 천연 항산화제에 비해 항산화 활성이 우수한 박태기나무 추출물을 포함하는 본 발명의 화장품은 피부 노화 억제, 피부 탄력 유지 또는 주름 개선을 위해 유용하게 이용될 수 있다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

항산화 활성을 나타내는 박태기나무의 알콜 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 노화 억제, 피부 탄력 유지 또는 주름 억제용 화장품.

【청구항 2】

제 1항에 있어서, 알콜은 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 부탄올로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화장품.

【청구항 3】

제 2항에 있어서, 알콜은 에탄올인 것을 특징으로 하는 화장품.

【청구항 4】

제 3항에 있어서, 60% 에탄올인 것을 특징으로 하는 화장품.

【청구항 5】

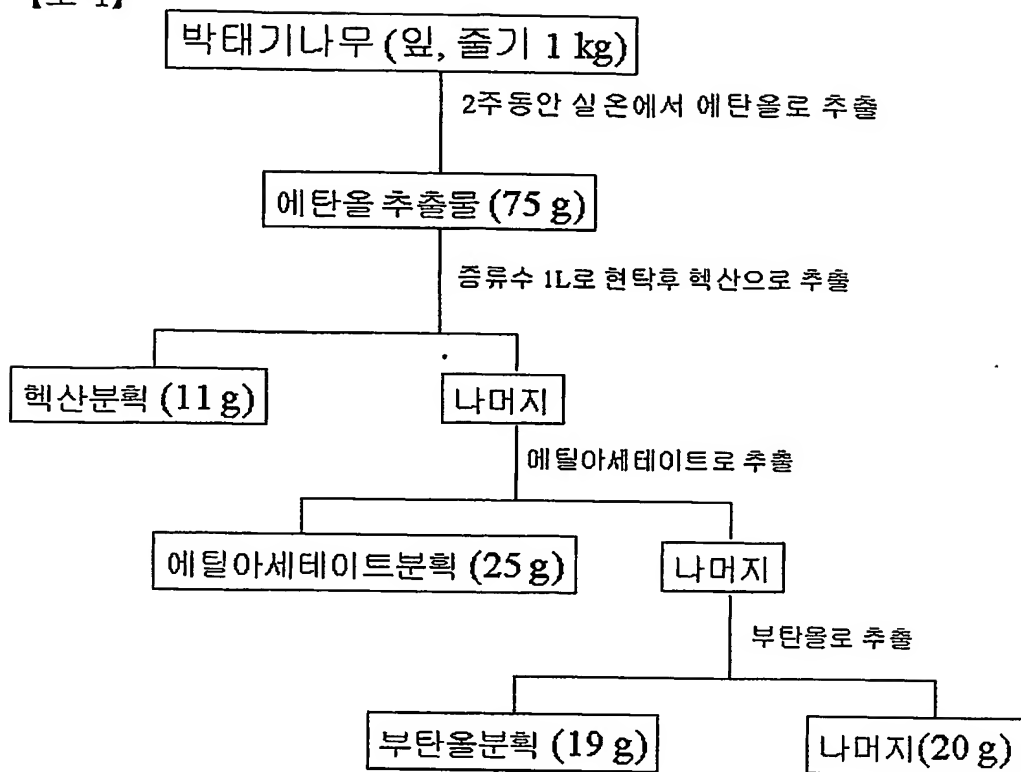
제 1항에 있어서, 상기 추출물은 화학식 1 내지 화학식 14로 표시되는 화합물로 구성된 군으로부터 선택된 화합물을 포함하는 것을 특징으로 하는 화장품.

【청구항 6】

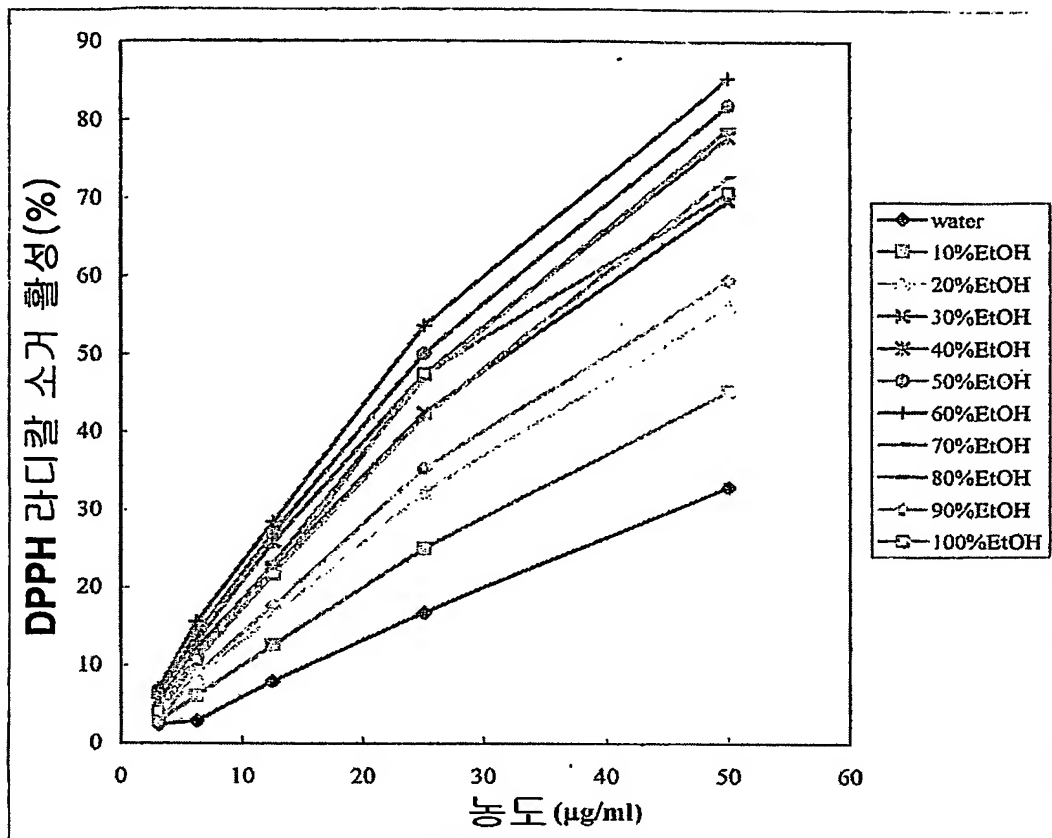
제 1항에 있어서, 화장품은 유연 화장수, 영양 화장수, 영양크림, 애펜스, 팩 및 목욕용 파우더의 기초 화장품으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 화장품.

【도면】

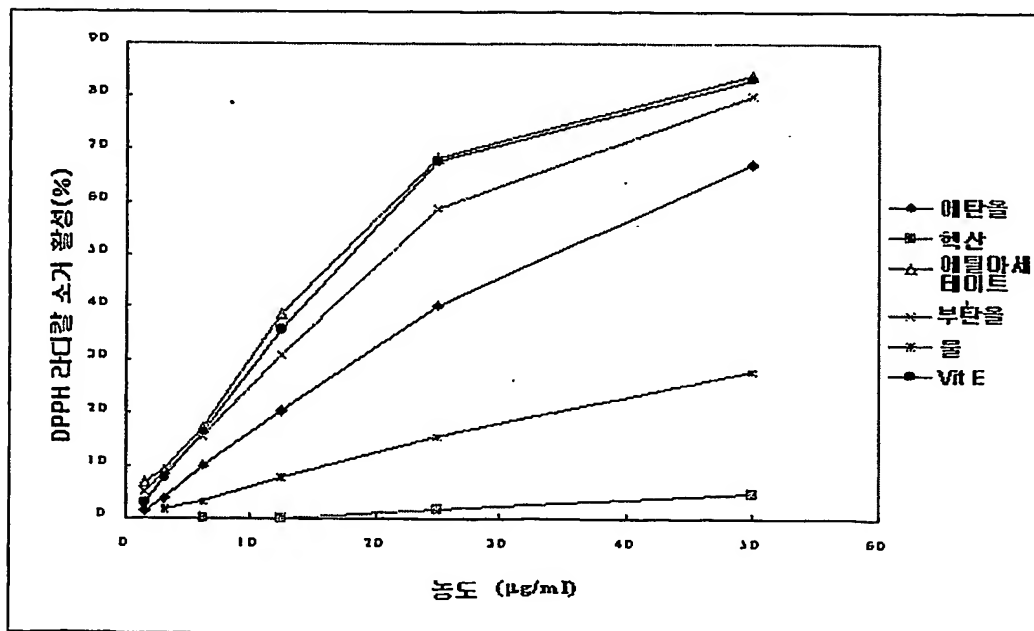
【도 1】



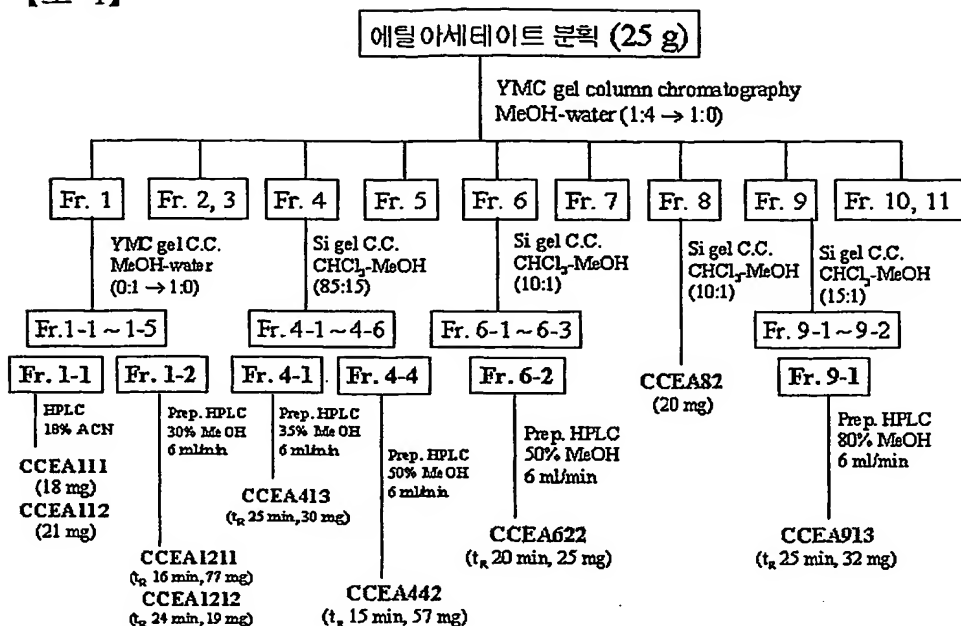
【도 2】



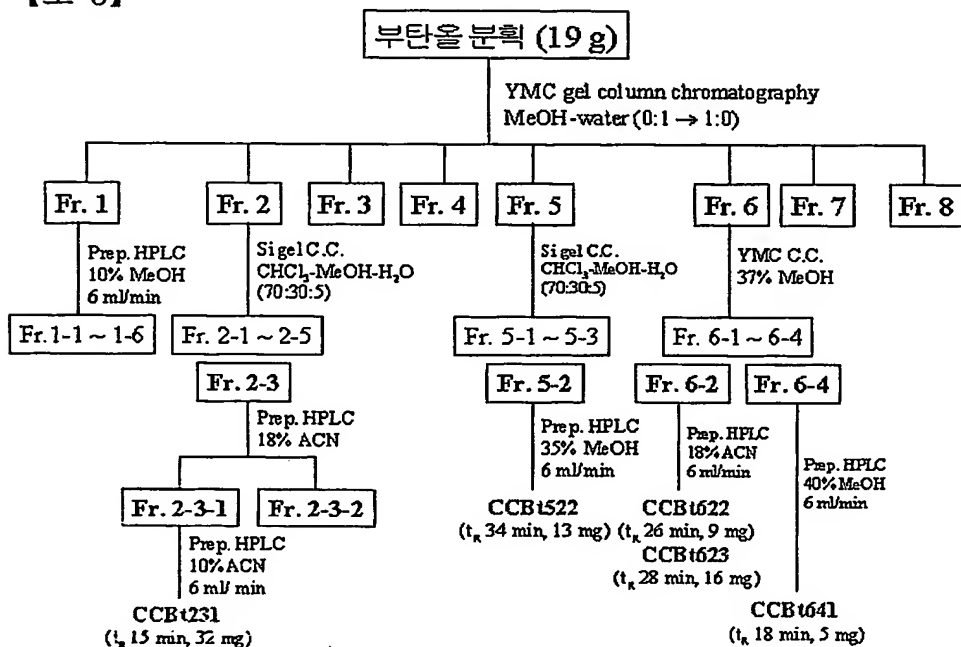
【도 3】



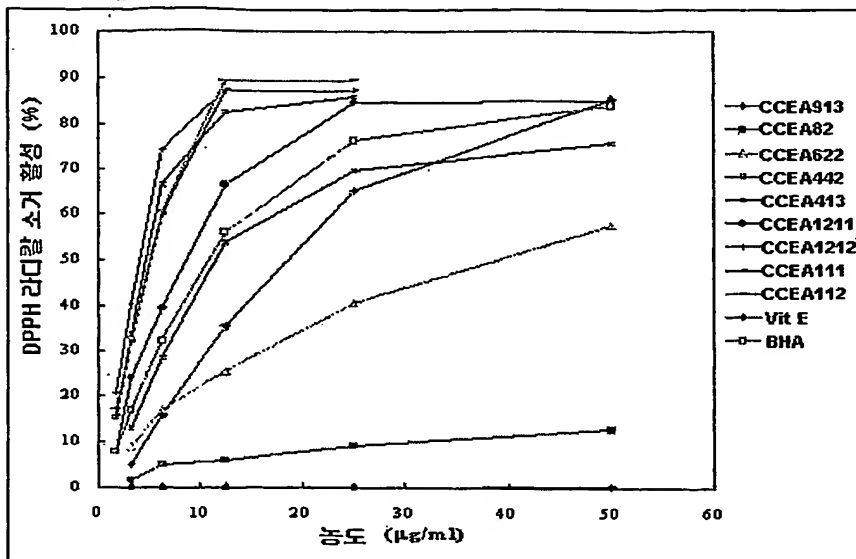
【도 4】



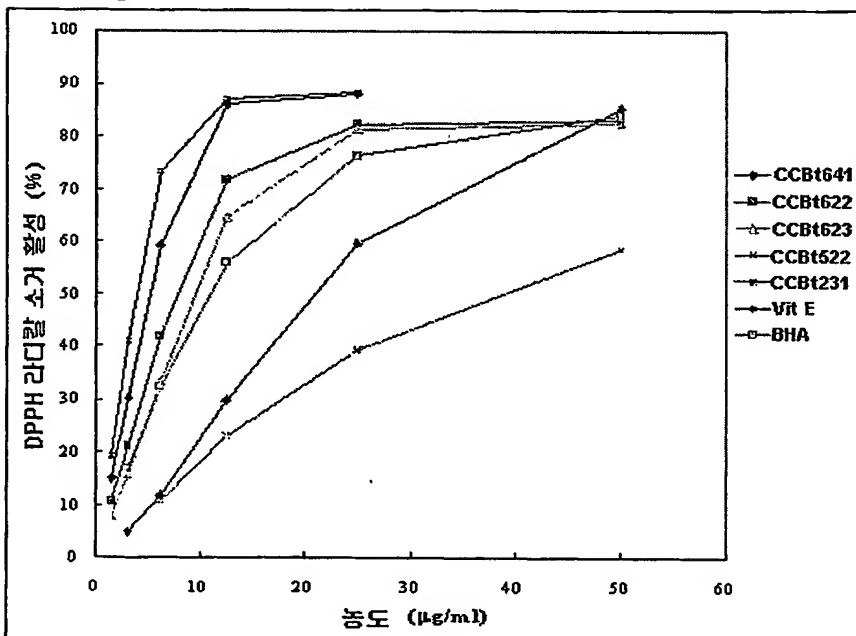
【도 5】



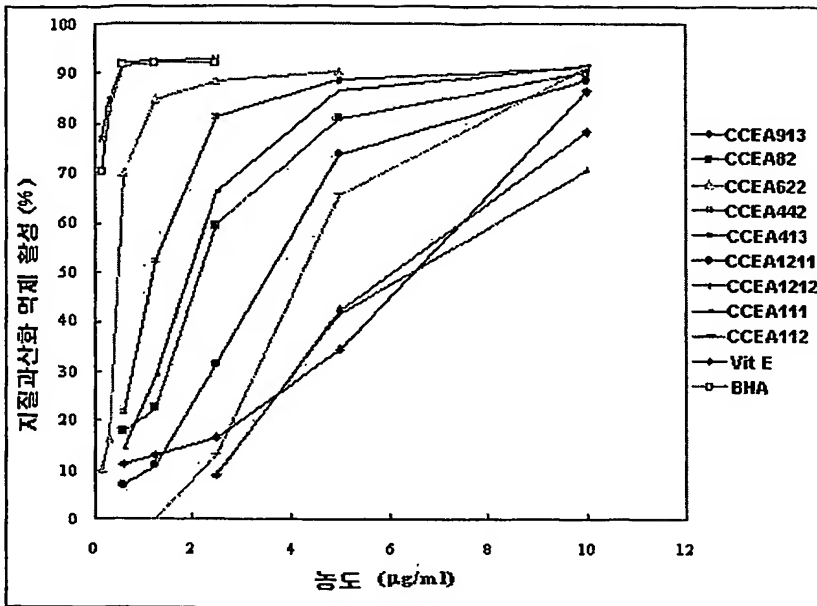
【도 6a】



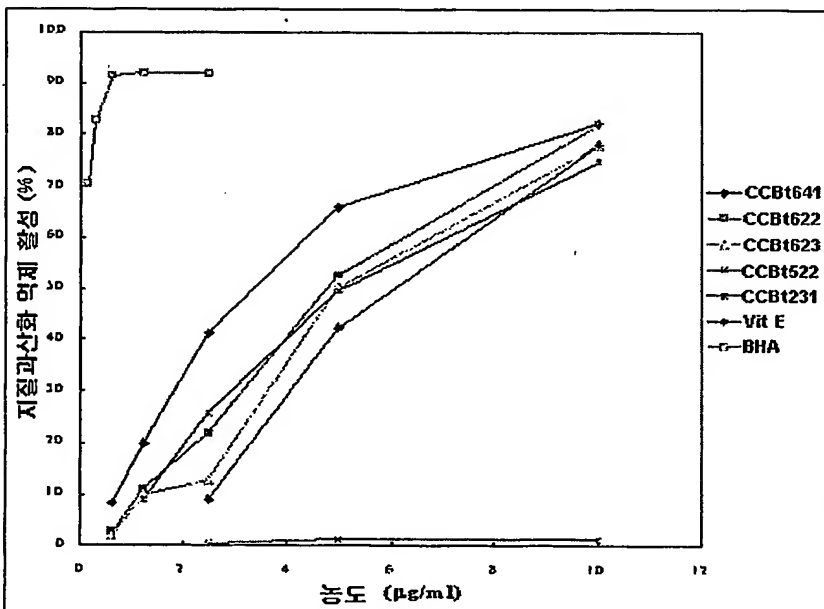
【도 6b】



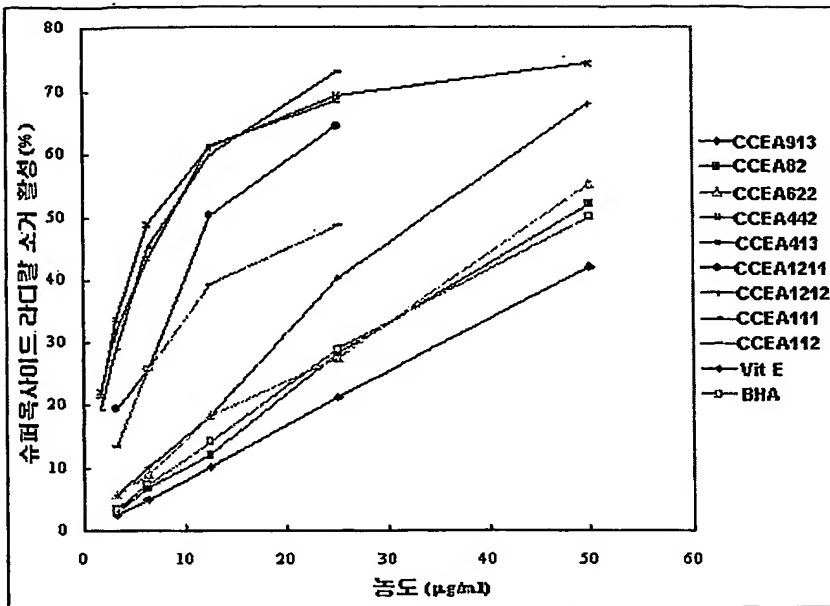
【도 7a】



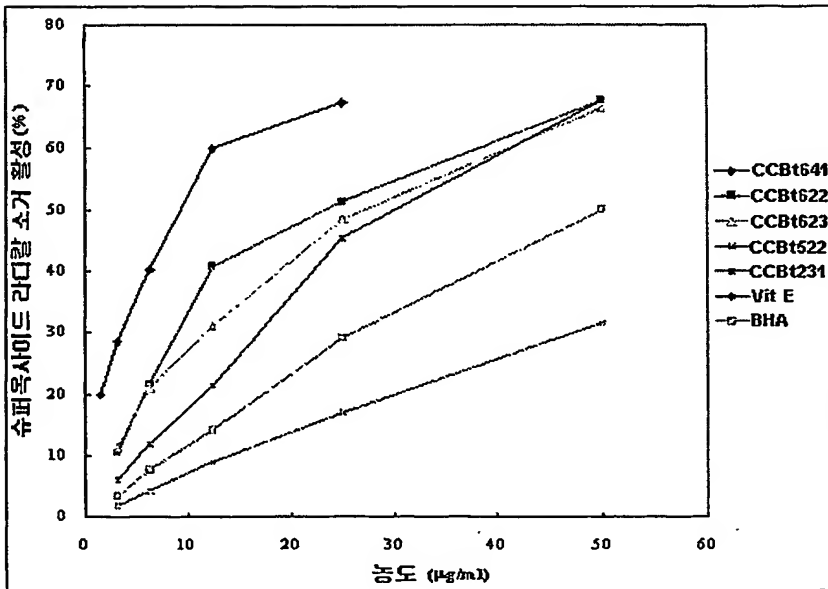
【도 7b】



【도 8a】



【도 8b】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.